

Faculté des sciences de la nature et de la vie  
Département de Biochimie et de BMC  
Master1 Biochimie de la Nutrition

Module / Semestre 2

# Analyse protéomique

Crédit: 4

Coefficient: 2

# Objectifs

- Connaître les différentes techniques d'analyse des protéines: Introduction aux outils de la protéomique.
- Notions de préparation d'échantillons protéiques compatibles avec une analyse protéomique.
- Conduire une expérience d'analyse de protéine.

***Apprendre***



- Principe de séparation par chromatographie.
- Principe de base de l'électrophorèse (1D et 2D).
- Principe de base de la spectrométrie de masse et de son utilisation en protéomique.

# Programme

➤ **Chapitre 1:**

- Notions: Génome, transcriptome, protéome, et métabolome
- Introduction à la protéomiques

➤ **Chapitre 2:** Techniques d'extraction et purification des protéines

➤ **Chapitre 3:** Techniques de séparation des protéines

- Chromatographie
- Electrophorèse 1D et 2D

➤ **Chapitre 4:** Techniques d'identification des protéines

- Spectrométrie de masse

# Le génome

**Définition:** contenu en ADN des cellules, soit tous leurs chromosomes.

Homo Sapiens: 23 paires de chromosomes (3 milliards de bases )

Le génome complètement séquencé en 2002

Les gènes codant pour des protéines occupent environ 5% du génome, la fonction des 95% restant n'est pas encore très claire.

# La génomique

**Définition:** étude et analyse des séquences d'acides nucléiques (ADN ou ARN) du point de vue qualitatif et/ou quantitatif

**Objectifs:** compréhension des génomes

- Composition du génome
- **Analyse des séquences** (gènes et régions intergéniques)
- Nombre de gènes et leur position sur les chromosomes
- **Niveau d'expression des gènes**
- Comparaison des génomes de diverses espèces (génomique comparative)

## **Transcriptome**

Ensemble des ARNm ou transcrits présents dans une cellule ou une population de cellules dans des conditions données.

# La transcriptomique

## Objectifs:

La transcriptomique consiste à:

- mesurer le niveau d'expression des gènes dans diverses situations (stades de développement, tissus sains vs malades...);
- mettre en évidence des modifications dans le niveau d'expression des gènes dans ces diverses situations;
- établir des relations de causes à effet entre les diverses variations détectées et les situations physio-pathologiques.

## Protéome

Terme défini par Wilkins *et al.* (1995)

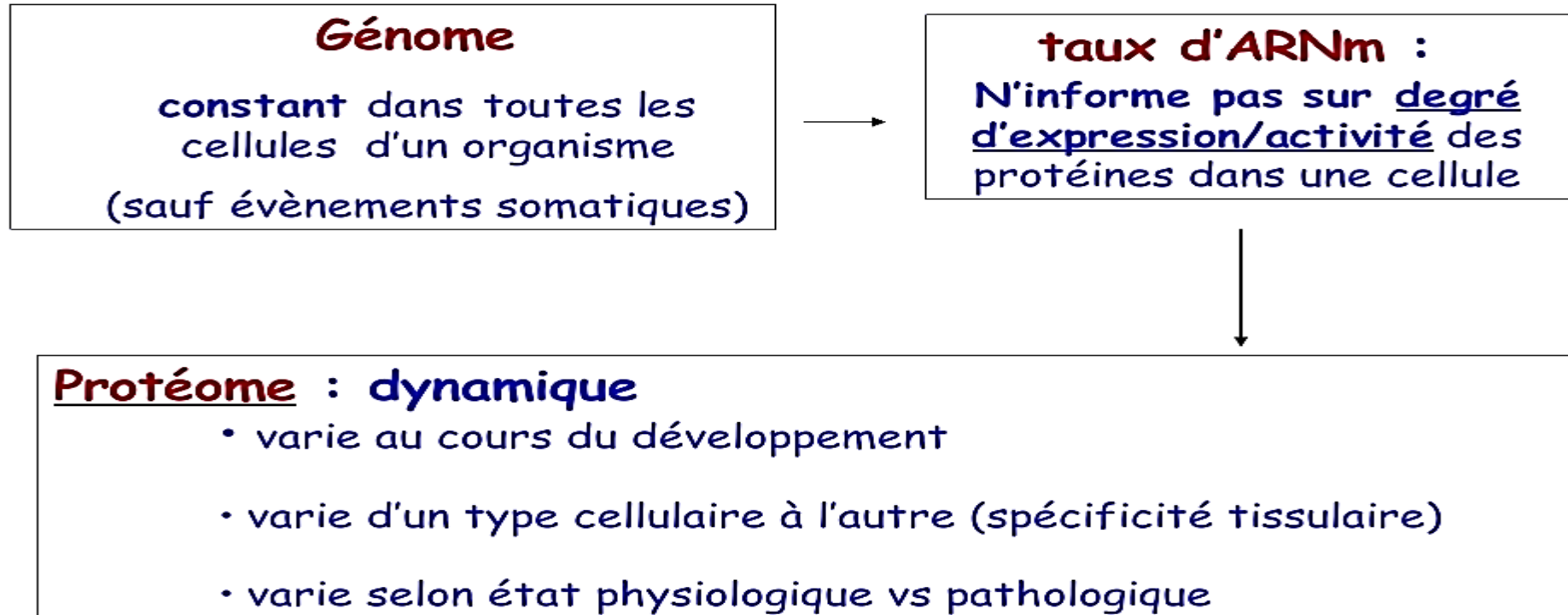
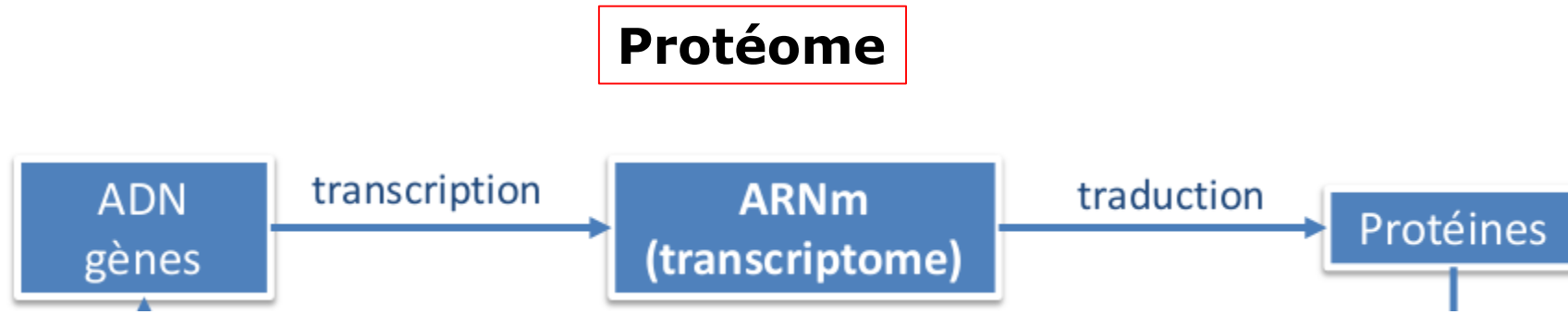
Concept désignant l'ensemble des produits fonctionnels des gènes d'un organisme vivant = ensemble des protéines à un temps  $t$  d'un organisme vivant donné, dans un environnement donné.

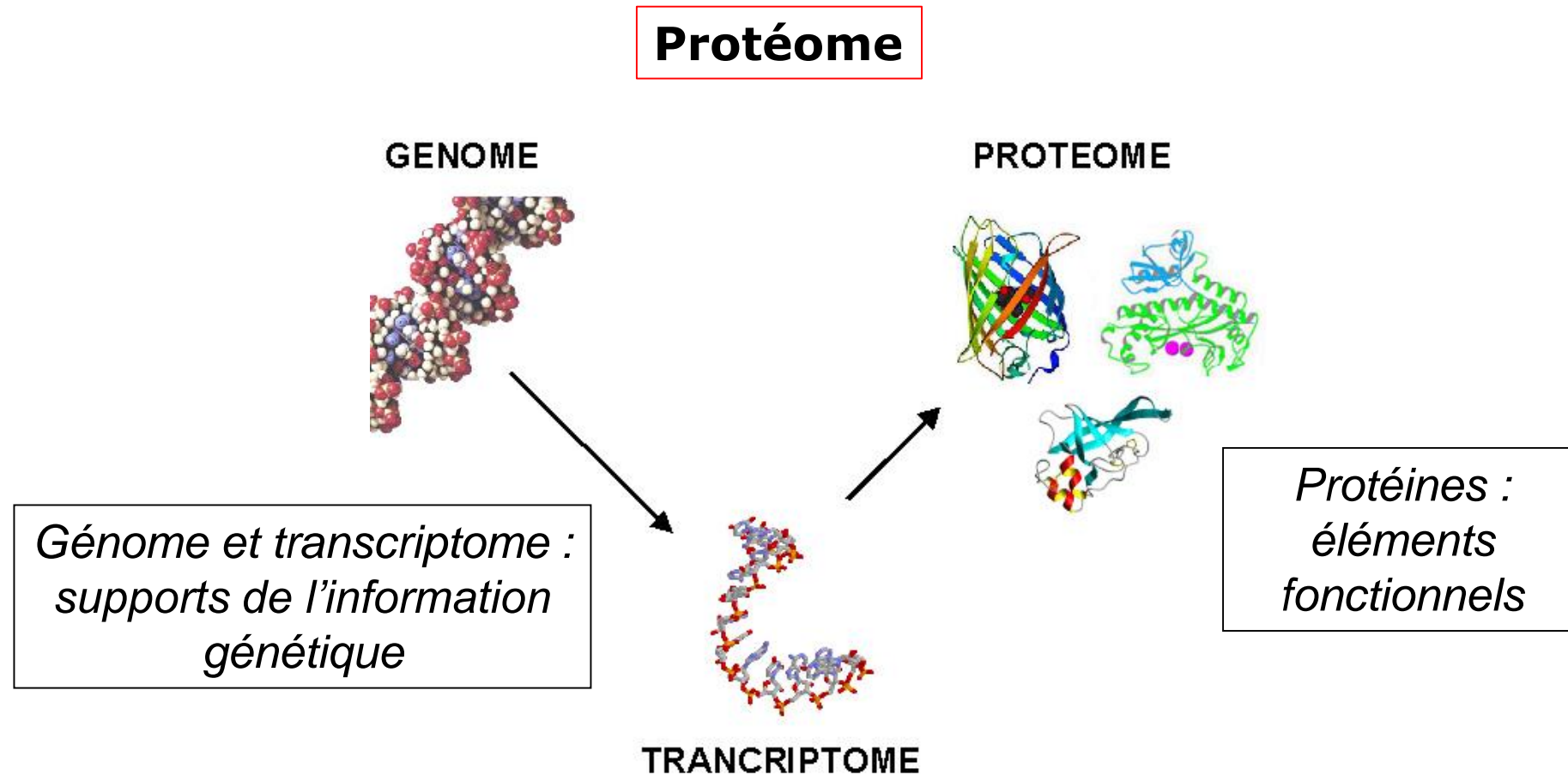
Le protéome résulte de la traduction du génome en protéines dans des conditions de vie définies. Il varie selon le type des cellules, leurs activités et leur environnement.

La taille du protéome est plus importante que celle du génome, car un gène peut coder pour plusieurs protéines en considérant les modifications introduites par la maturation des mRNA et les modifications post-traductionnelles (glycosylation, phosphorylation,...). Le protéome est **dynamique**, le génome est **constant**.



➤ Chapitre 1: Introduction à la protéomique





**Chaque protéine a une structure et une fonction qui lui est propre.**

- hemoglobine : forme globulaire. Fixation de l'oxygène et du CO<sub>2</sub>
- actine : filament. Permet la contraction des muscles

## **Pourquoi l'étude du protéome ?**

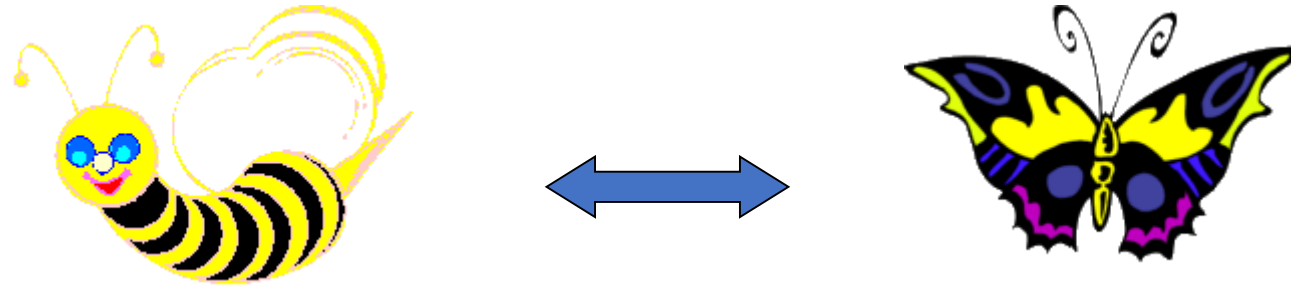
Le séquençage du génome humain a révélé l'existence de 30 000 gènes. On peut déterminer la séquence des protéines à partir de la séquence des gènes.

***Mais connaître la séquence théorique des protéines ne suffit pas...***

- la séquence ne permet pas toujours de prédire la fonction de la protéine : celle-ci est souvent reliée à sa structure dans l'espace
- la protéine est très souvent modifiée après sa fabrication (coupure, ajout d'autres composés,...)
- 1 gène peut donner plusieurs formes d'une même protéine. Chez l'homme : 30 000 gènes mais 100 000 protéines supposées

***Après l'étude du génome, l'étude du protéome est donc indispensable et constitue une nouvelle étape.***

## *Pourquoi l'étude du protéome ?*



même génome  
différents protéomes  
différents phénotypes



Analyse du protéome

## Protéomique

L'approche protéomique vise à établir **l'identité, la quantité et la fonction** des protéines, et à **en déterminer l'expression** en fonction des conditions environnementales.

- Permet:
- la recherche et l'identification systématique de l'ensemble des protéines constituant un organisme, un tissu...
  - l'identification des protéines constituant un complexe protéique (interactions protéines-protéines)
  - la recherche et l'identification de protéines impliquées dans des voies de signalisation par exemple par une analyse différentielle (sauvage/mutant).

## Protéomique

L'approche protéomique vise à établir **l'identité, la quantité et la fonction** des protéines, et à **en déterminer l'expression** en fonction des conditions environnementales.

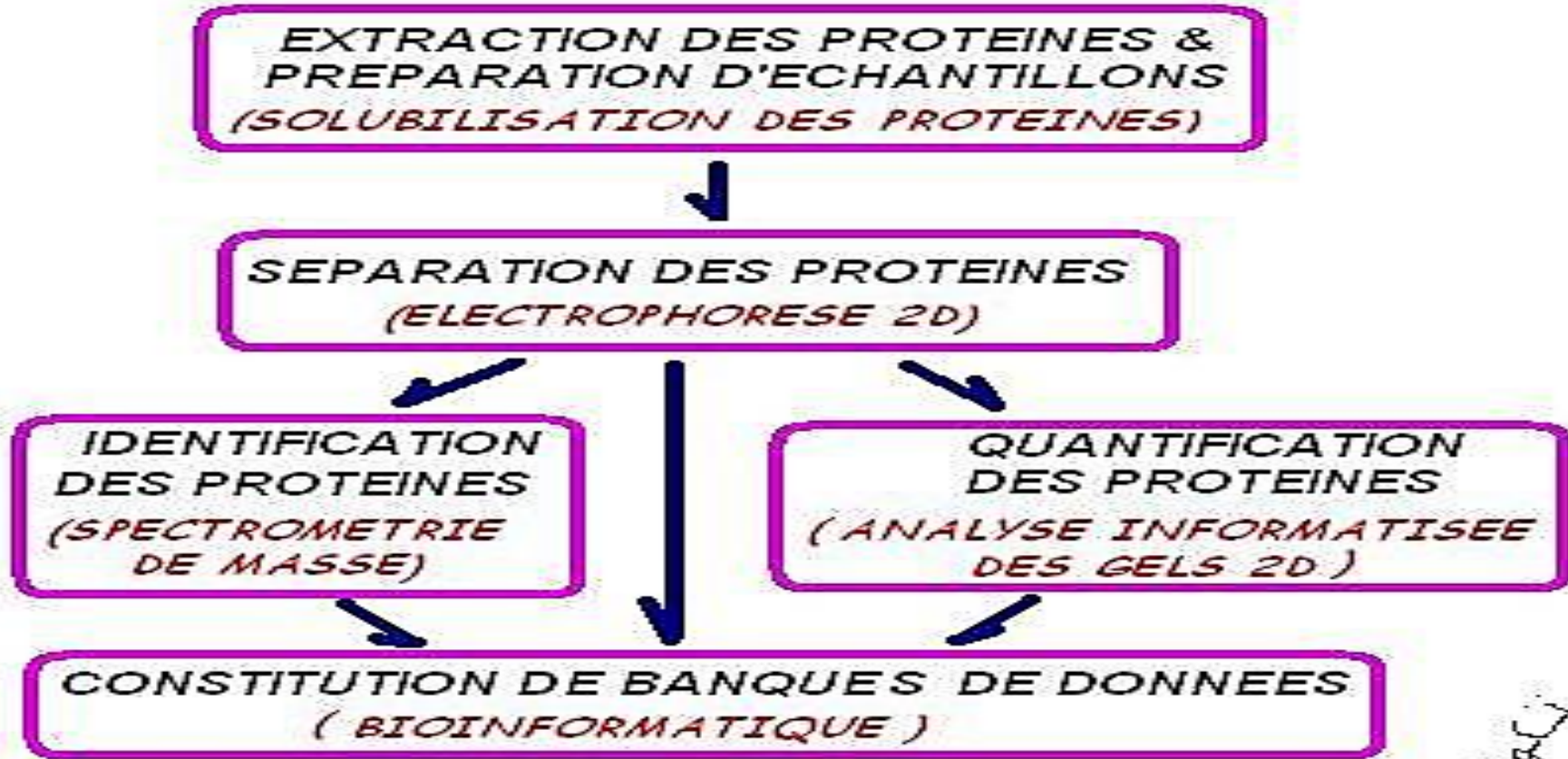
- Permet:
- Comprendre les processus cellulaires normaux ou responsables de maladies (cancers, maladie neurodégénératives, etc...)
  - Identifier de nouvelles protéines
  - Identifier des protéines indicatrices de maladies (biomarqueurs)

## **Protéomique**

L'analyse protéomique propose de donner des cartes protéiques les plus globales d'un système biologique à un moment donné de son existence en fonction des conditions physiopathologiques.

ce type d'approche a été lié au développement simultané de différentes techniques allant de la préparation de l'échantillon (gel d'électrophorèse, chromatographie liquide,...) à l'étude bio-informatique (banques de données génomique et protéique, clusters d'ordinateurs,...), tout en passant par l'analyse par spectrométrie de masse (sensibilité, résolution et précision des mesures de masse, nouvelles génération de spectromètres,...).

# Protéomique



**PROTEOMIQUE. LES GRANDES ETAPES**

1/25/07